Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
und Virologie der Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. med. P. Naumann

Prüfung mehrerer Blutkulturverfahren mit Haemophilus influenzae

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Peter Herzig

1981

1982

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez. Prof. Dr. Gunther Arnold

Referent:
gez. Prof. Dr. Rosin

Korreferent:
gez. Priv.-Doz. Dr. Königshausen

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538102_0041

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
und Virologie der Universität Düsseldorf

Direktor: Prof. Dr. med. P. Naumann

Prüfung mehrerer Blutkulturverfahren mit Haemophilus influenzae

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Peter Herzig

1981

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez. Prof. Dr. Gunther Arnold

Referent:
gez. Prof. Dr. Rosin

Korreferent:
gez. Priv.-Doz. Dr. Königshausen

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

INHALT

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	LITERATUR	3
2.1	Pathogene Bedeutung von Haemophilus influenzae	3
2.2	Bakteriologie	3
2.3	Nährmedien	4
2.4	Literaturangaben zur Blutkultur von Haemophilus influenzae	5
2.4.1	Vergleichsuntersuchungen geeigneter Nährmedien	5
2.4.2	Kulturmilieu	6
2.4.3	Subkulturen	7
3.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	8
3.1	Gegenstand der Untersuchung	8
3.2	Material und Methode	8
3.2.1	Blutkulturverfahren	8
3.2.1.1	Vacutainer^{R}	8
3.2.1.2	Mikrognost^{R}-Blutkulturflasche	8
3.2.1.3	Aer-Hemocult^{R} und Anaer-Hemocult^{R} Pasteur	9
3.2.1.4	Ansatz von Blutkulturen aus Liquoid^{R}-Venülen	9
3.2.2	Testbakterien	9
3.2.3	Blutproben mit definierter Keimkonzentration	10
3.2.4	"Transport"-Zeiten	10
3.2.5	Subkulturen	11
3.2.6	Protokoll der Kulturergebnisse	11
3.2.7	Versuchsplanung	11
3.2.7.1	Vorversuche (6 Versuchsserien)	11
3.2.7.2	Hauptversuche (30 Versuchsserien)	12
3.3	Ergebnisse	12
3.3.1	Vorversuche mit Haemophilus influenzae in physiologischer Kochsalzlösung	12
3.3.2	Hauptversuche mit Haemophilus influenzae in Blut und sofortigem Kulturansatz	13
3.3.3	Hauptversuche mit "Transport"-Zeiten	16

		Seite
3.3.4	Visuelle Beurteilung - Subkultur	16
4.	DISKUSSION	21
4.1	Bedeutung des Patientenblutes als Wuchsstoffquelle	21
4.2	Eignung der Kulturmedien	21
4.3	Einfluß der Belüftung von Kulturmedien	22
4.4	Vorteile "blinder" Subkulturen	23
4.5	Wartezeiten - "Transport"-Zeiten	23
4.6	Beurteilung des konventionellen Blutkulturverfahrens (Liquoid^{R}-Venüle) im Vergleich zu Blutkulturflaschen	24
5.	SCHLUSSFOLGERUNGEN	25
	LITERATURVERZEICHNIS	28

1. Einleitung

In der neueren medizinischen Literatur wird von mehreren Autoren (3; 4; 7) berichtet, daß Infektionen mit Haemophilus influenzae bei Kindern sehr häufig zur Haemophilus influenzae-Bakteriämie bzw. -Sepsis führen.

Im Gegensatz zu diesen Berichten wird Haemophilus influenzae im Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Universität Düsseldorf nur selten aus Blutkulturen nachgewiesen. Dies kann epidemiologische Gründe haben oder in einer geringeren Entnahmehäufigkeit von Blutproben zur Blutkultur begründet sein.

Es stellt sich aber auch dringend die Frage, ob das in diesem Institut durchgeführte konventionelle Blutkulturverfahren zum Nachweis von Haemophilus influenzae ungeeignet oder weniger geeignet ist als andere Techniken.

Nach WASHINGTON (18) werden - in Amerika - heute meist Blutkulturflaschen verwendet, bei denen die Blutproben direkt am Krankenbett in geeignete Nährbouillon inokuliert werden. Vergleichsuntersuchungen zwischen Blutkulturflaschen und dem konventionellen Verfahren mit Liquoid^{R}-Venülen konnte WASHINGTON (18) in der Literatur nicht ermitteln.

Da auch zwischenzeitlich keine entsprechenden Untersuchungen bekannt wurden, wurde die Qualität der verschiedenen Blutkulturverfahren für den Nachweis von Haemophilus influenzae in dieser Studie geprüft.

Haemophilus influenzae eignet sich besonders für einen solchen Vergleich, weil er ein empfindliches Bakterium ist, das hohe Ansprüche an das Kulturmedium stellt. In einer experimentellen Studie von BABU et al. (1) wurde Haemophilus influenzae

bei der Untersuchung von elf verschiedenen Bakterienarten in der Blutkultur am häufigsten nicht nachgewiesen. Daher dient diese Studie - über die spezielle Fragestellung des Nachweises von Haemophilus influenzae in Blutkulturen hinaus - einer grundsätzlichen Beurteilung der untersuchten Blutkulturverfahren.

2. LITERATUR

2.1 Pathogene Bedeutung von Haemophilus influenzae

Haemophilus influenzae kann primärer Entzündungserreger sein oder nach Vorschädigung der Schleimhäute sekundär Entzündungen hervorrufen.

Am häufigsten sind Infektionen der Atemwege:
Sinusitis, Epiglottitis, Bronchitis und auch Pneumonie. Weiterhin wird Haemophilus influenzae oft als Erreger der Konjunktivitis und Otitis nachgewiesen. Zusammen mit Meningokokken und Pneumokokken gehört Haemophilus influenzae zu den klassischen Erregern der Meningitis purulenta.

Die Haemophilus influenzae - Meningitis und Fälle von Haemophilus influenzae - Osteomyelitis, Haemophilus influenzae -Endokarditis sowie Infektionen nach Splenektomie weisen auf die Möglichkeit der hämatogenen Ausbreitung von Haemophilus influenzae - Infektionen hin (14; 16; 17). Die Haemophilus influenzae - Sepsis kann zu bakteriellen Mikroembolien und Hautblutungen führen, ähnlich der Meningokokkensepsis (ROSIN, pers. Mitteilung).

2.2 Bakteriologie

Die Gattung Haemophilus ist dadurch charakterisiert, daß sie zum Wachstum die im Blut vorkommenden Wuchsfaktoren X (Hämin) und V (Coenzym I, NAD) benötigt.

Haemophilus influenzae ist unter aeroben Bedingungen auf die Zufuhr sowohl des X- als auch des V-Faktors angewiesen, während es unter anaeroben Bedingungen auch ohne X-Faktor wachsen kann (5; 6; 9). Der X-Faktor, das Hämin, kann im

Unterschied zum V-Faktor aus intakten roten Blutzellen hinausdiffundieren und ist daher im Nativblutagar für Bakterien verfügbar.

Haemophilus influenzae benötigt den X-Faktor zur Synthese von eisenhaltigen Enzymen der Atmungskette. Zufuhr von außen ist erforderlich, weil der Keim im Unterschied zu den meisten anderen Bakterienarten nicht in der Lage ist, Protoporphyrin aus α-Aminolävulinsäure zu synthetisieren (5; 6).

Der V-Faktor (Coenzym I, Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid) findet sich - ebenso wie der X-Faktor - in Erythrozyten, aus denen er durch Erhitzen auf 80° - 90°C freigesetzt wird.

Weiterhin ist Coenzym I in einer Reihe von Pflanzen enthalten und wird von vielen Pilz- und Bakterienarten (z. B. Staphylokokken) im Überschuß synthetisiert (5; 10; 14; 17). Im Stoffwechsel von Haemophilus influenzae hat der V-Faktor die Funktion eines Wasserstoffaktzeptors (5; 6).

2.3 Nährmedien

Zur Anzüchtung von Haemophilus influenzae sind verschiedene Kulturverfahren geeignet:

Haemophilus influenzae wächst bei Zusatz von 5 - 10 % defibriniertem Meerschweinchen- oder Kaninchenblut auf Nähragar (5; 17).

Im üblichen Schafsblutagar fehlt der V-Faktor. Er kann ergänzt werden, indem V-Faktor produzierende Staphylokokken mit einem Impfstrich auf den Blutagar aufgetragen werden (Ammenphänomen).

Beim Kochblutagar wird der V-Faktor durch Erhitzen des Schafsblutes auf 80° - 90°C freigesetzt.

Ein Filtrat von auf 80° - 90°C erhitztem Blut und Nährlösung ist die Grundlage des Levinthal-Agars bzw. der Levinthal-Bouillon.

Im Fildes Agar ist der V-Faktor durch peptische Andauung roter Blutkörperchen freigesetzt.

Andere Kulturmöglichkeiten ergeben sich durch Zugabe von V-Faktor enthaltenden Substanzen, wie z. B. Hefeextrakt oder Tomatensaft zum jeweiligen Nährsubstrat.

2.4 Literaturangaben zur Blutkultur von Haemophilus influenzae

2.4.1 Vergleichsuntersuchungen geeigneter Nährmedien

Der Nachweis von Bakterien im Blut septischer Patienten kann schwierig sein, wenn die Bakteriämie intermittierend auftritt, wenn die natürliche Blutbakterizidie eimpfindliche Erreger stark schädigt, wenn die Patienten mit Antibiotika vorbehandelt sind oder wenn - wie bei Haemophilus influenzae - der Erreger besondere Ansprüche an das Kulturmilieu stellt. TODD und BRUHN (16) fanden bei Kindern mit Haemophilus influenzae-Sepsis unter fünf angelegten Blutkulturen stets eine negative Kultur.

Nach TURK (17) ist jedes laborübliche Blutkulturmedium für die Anzüchtung von Haemophilus influenzae geeignet, da die besonderen Wuchsstoffbedürfnisse dieses Keims durch die zwangsläufige Zugabe von Patientenblut zum Kulturmedium ausreichend berücksichtigt werden.

WASHINGTON (19; 20) stellte den Vergleich von Trypticase Soy Broth enthaltenden Blutkulturflaschen mit der Vacutainer^{R} -Flasche an. Er fand ebenfalls keine signifikanten Unterschiede.

ROSNER (11) stellte fest, daß mit Trypticase Soy Broth und

dem E-Vac Hypertonic Brucella System^{R} (Pfitzer) Haemophilus influenzae häufiger nachweisbar war als mit Thioglykolat-Bouillon oder dem Vacutainer^{R}.
SCHELL (13) verglich 23 verschiedene Blutkulturmedien. Der Nachweis von Haemophilus influenzae war optimal in der Hirn-Herz-Bouillon. Weiterhin waren Trypticase Soy Broth und Supplemented Peptone Broth allen anderen untersuchten Kulturmedien überlegen.

2.4.2 Kulturmilieu

Während deutsche Mikrobiologen (8; 10) 37°C als optimale Temperatur für die Vermehrung der meisten menschenpathogenen Bakterien ansehen, bebrüten anglo-amerikanische Autoren (11; 13; 15; 18) ihre Blutkulturen bei 35°C.

CO_2 gilt als wachstumsfördernder Faktor für viele anspruchsvolle Keime (8) und wird in Konzentrationen von 5 % (11; 13; 15; 19) und 10 % (2; 10) angewandt.
Auch die Erstanzüchtung von Haemophilus influenzae wird durch eine CO_2-Konzentration von 10 % begünstigt (10).

Blutkulturflaschen können mit Belüftung (aerobes Milieu) und unbelüftet (anaerobes Milieu) bebrütet werden.
SCHELL (13) und WASHINGTON (18) benutzten nur unbelüftete Kulturflaschen. WASHINGTON (18) wies 1975 darauf hin, daß in allen bisherigen Studien unbelüftete Flaschen bei allen Erregern, mit Ausnahme von Candida, gleiche oder bessere Kulturergebnisse zeigen als belüftete Kulturflaschen.
In einer Untersuchung aus dem Jahre 1979 benutzten SZYMCZAK et al. (15) bei Blutkulturen parallel eine belüftete Flasche mit Brucella Broth und eine unbelüftete Flasche mit Columbia Broth. In 116 Blutkulturen wurde Haemophilus influenzae gefunden. Der Keim wurde bei 86 % in beiden, bei 6 % nur in der unbelüfteten, bei 8 % nur in der belüfteten Flasche nachgewiesen.

2.4.3 Subkulturen

Das Wachstum von Haemophilus influenzae führt in der Nährlösung selten zu einer deutlichen Trübung.

Bei Blutkulturen in Nährlösungen oder Blutkulturflaschen sollten regelmäßig alle zwei Tage Subkulturen angelegt werden. BLASEVIC et al. (2) konnten in allen von ihnen untersuchten Fällen von Haemophilus influenzae-Bakteriämie den Erreger zuerst durch blinde Subkulturen nachweisen.
Von 116 positiven Blutkulturen mit Haemophilus influenzae konnten SZYMCZAK et al. (15) nach 24-stündiger Bebrütung in nur 19 % das Wachstum durch visuelle Beurteilung des Kulturmediums feststellen. Über zu diesem Zeitpunkt angelegte Subkulturen konnte Haemophilus influenzae in 88 % der Fälle nachgewiesen werden.

Von den meisten Autoren wird empfohlen, die Subkulturen auf Kochblutagar anzulegen (5; 11; 13; 15; 18) und bis zu 48 Stunden lang (15; 18) in einer Atmosphäre von 5 - 10 % CO_2 (11; 13; 15; 18) zu bebrüten.

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Gegenstand der Untersuchung

Der Nachweis von Haemophilus influenzae aus Blutkulturen wurde mit drei im Handel erhältlichen, gebrauchsfertigen Blutkulturflaschen und mit dem im Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Universität Düsseldorf - nach Einsendung der Blutproben in Liquoid^{R}-Venülen - üblichen Kulturverfahren vergleichend untersucht.

3.2 Material und Methode

3.2.1 Blutkulturverfahren

3.2.1.1 Vacutainer^{R} Brand Culture Tube (Becton/Dickinson)

Nach Angaben des Herstellers enthalten die Vacutainer^{R} 20 ml einer Supplemented Peptone Broth. Natriumpolyanetholsulfonat ist in einer Konzentration von 0,05 % zugesetzt. Die Kulturflaschen stehen unter Vakuum und könnten zur Untersuchung ein Blutvolumen von 2 ml aufnehmen. Das Kulturmedium kann mit Hilfe einer "Ventilationseinheit" belüftet werden. Zusätzlich werden für die Anzüchtung streng anaerober Keime geblockte Ventilationseinheiten angeboten.
Beide Bebrütungsmöglichkeiten - mit offener und geblockter Ventilationseinheit - wurden untersucht.

3.2.1.2 Mikrognost^{R}-Blutkulturflasche (Biotest)

Als Nährmedium enthalten Mikrognost^{R}-Flaschen 60 ml eines modifizierten Hirn-Herz-Infus, dem Natriumpolyanetholsulfat in einer Konzentration von 0,03 % zugesetzt ist. Das Nährmedium ist mit CO_2 angereichert.
Die Mikrognost^{R}-Flaschen stehen unter Vakuum und können

etwa 10 ml Blut aufnehmen.
Die Kulturen können mit einem Ventilationsstück belüftet werden. Sowohl belüftete als auch unbelüftete Kulturen wurden untersucht.

3.2.1.3 Aer Hemocult^{R} und Anaer Hemocult^{R} Pasteur (Institut Pasteur Production, Fresenius)

Dieser Hersteller bietet zwei Typen von Blutkulturflaschen an, die 100 ml Nährlösung verschiedener Zusammensetzung enthalten. Das Nährmedium der Kulturflasche "Aer Hemocult Pasteur^{R}" eignet sich für aerobe und fakultativ aerobe Keime, während das Nährmedium für "Anaer Hemocult Pasteur^{R}"-Flaschen die Anzüchtung von fakultativ anaeroben und streng anaeroben Bakterien begünstigen soll.
Die Pasteur-Flaschen eignen sich für Blutvolumina zwischen 5 und 10 ml.

3.2.1.4 Ansatz von Blutkulturen aus Liquoid^{R}-Venülen

Die Liquoid^{R}-Venülen sind evakuierte Glasröhrchen, die 1 ml 1 %-ige Liquoid^{R}-Lösung enthalten. Die Liquoid^{R}-Lösung verhindert durch den Gehalt an Natriumpolyanetholsulfat die Blutgerinnung.
Das Fassungsvermögen der Venülen beträgt 6 - 8 ml Blut.
Zum Nachweis von Haemophilus influenzae wurde 1 ml Venülenblut in Levinthal-Bouillon (ca. 2 ml) inokuliert und aerob sowie unter 10 %-iger CO_2-Spannung bebrütet.

3.2.2 Testbakterien

Die Versuchsserien dieser Studie wurden mit 11 Stämmen von Haemophilus influenzae durchgeführt.
Zur Vorbereitung der sogenannten "Impfsuspension", mit der die vorliegenden sterilen Blutproben beimpft wurden, wurden Einzelkolonien von Haemophilus influenzae zweimal in

Levinthal-Bouillon suspendiert und bebrütet, damit stets frisch angezüchtete, gut lebens- und vermehrungsfähige Bakterien in die Blutprobe gelangten.
Die zur Inokulation in die Blutprobe vorgesehene Bakterienzahl wurde durch Zählung in der Bakterienzählkammer eingestellt.

Zur Überprüfung, ob alle in den Impfsuspensionen mikroskopisch gezählten Bakterien lebens- und vermehrungsfähig waren, wurden Proben der Impfsuspensionen auch auf Kochblutagar ausgestrichen. Die Zahl der vermehrungsfähigen verimpften Haemophilus-Bakterien konnte so durch Zählung der koloniebildenden Einheiten überprüft werden. Abweichungen zwischen dem in der Bakterienzählkammer ermittelten Wert und der Kolonienzahl auf der Kochblutplatte wurden protokolliert und in der Auswertung berücksichtigt.

3.2.3 Blutproben mit definierter Keimkonzentration

Kurz vor dem Ansatz der Versuche wurde ein definiertes Volumen frischen venösen Blutes von freiwilligen Spendern entnommen und durch Zusatz von 75 IE/ml Blut Natrium-Heparinat (Liquemin^{R}) ungerinnbar gemacht.
Diesem Blutreservoir wurde unter ständiger Durchmischung mittels Magnetrührer die in den einzelnen Versuchsserien gewünschte Keimzahl zugesetzt. Aus dem bakterienhaltigen Blut wurden die Liquoid^{R}-Venülen und die Blutkulturflaschen unmittelbar anschließend beschickt. Die Blutkulturflaschen waren entsprechend der Herstellerempfehlung vorgewärmt.

3.2.4 "Transport"-Zeiten

Die beschickten Blutkultursysteme wurden vor Kulturbeginn parallel verschiedenen Lagerzeiten bei Zimmertemperatur, im folgenden "Transport"-Zeiten genannt, ausgesetzt.
Die "Transport"-Zeiten betrugen zwischen 30 min und 48 Std.
Die Ergebnisse von Blutkulturen, die der kürzesten (30 min)

und der längsten (48 Std.) "Transport"-Zeit ausgesetzt waren, wurden in einer besonders großen Versuchsserie verglichen.

3.2.5 Subkulturen

Von jeder Blutkultur wurden nach 1, 2, 4, 6 und 8 Tagen Subkulturen angelegt. Sie wurden auf Kochblutagar ausgestrichen und unter 10 %-iger CO_2-Atmosphäre bei $37^{o}C$ bebrütet.
Die Beurteilung der Subkulturen erfolgte nach 24 und 48 Std.

3.2.6 Protokoll der Kulturergebnisse

Die Ergebnisse der Blutkulturen wurden durch visuelle Beurteilung und Anlegen von Subkulturen protokolliert. Für ein positives Kulturergebnis war erforderlich, daß Haemophilus influenzae in der Subkultur zweimal nachgewiesen werden konnte und als solcher durch das Ammenphänomen bestätigt wurde.
Das Ergebnis einer Blutkultur wurde als negativ beurteilt, wenn die letzte - nach 8-tägiger Bebrütung - angelegte Subkultur noch kein Wachstum erkennen ließ.

3.2.7 Versuchsplanung

3.2.7.1 Vorversuche (6 Versuchsserien)

Bei Vorversuchen wurden die Blutkultursysteme zunächst nicht mit Haemophilus influenzae-Suspensionen in Blut, sondern mit in physiologischer Kochsalzlösung suspendierten Keimen beschickt. Die Suspensionsdichte der Kochsalzlösung wurde für die einzelnen Blutkultursysteme so eingestellt, als wäre Blut mit einer Bakterienmenge von 10 Keimen/ml Blut eingefüllt worden.

Bei negativem Kulturergebnis wurde die in das Blutkultursystem inokulierte Keimzahl im nächsten Versuch gesteigert.

Die maximal inokulierte Keimzahl entsprach einer Bakteriendichte von 9 x 10^5 K/ml Blut.
Die Bebrütung der Kulturmedien begann sofort nach der Beimpfung.

3.2.7.2 Hauptversuche (30 Versuchsserien)

Die Hauptversuche wurden mit Proben frischen venösen Blutes von freiwilligen Spendern durchgeführt.
In den Blutreservoiren, aus denen die Blutkultursysteme beschickt wurden, wurde mittels Bakterienzählkammer eine Bakteriendichte von 10 K/ml Blut eingestellt.
Bei den ersten 12 Versuchsserien begann die Bebrütung unmittelbar nach Beimpfung der Kulturmedien. Durch die zwölfmalige Wiederholung sollte geprüft werden, ob bereits unter optimalen Bedingungen (keine "Transport"-Zeiten) Unterschiede in der Leistungsfähigkeit der Kultursysteme hervortreten.
Anschließend wurden Untersuchungen mit Wartezeiten von 30 min., 6, 24 und 48 St. durchgeführt.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Vorversuche mit Haemophilus influenzae in physiologischer Kochsalzlösung

Eine Suspension von Haemophilus influenzae in physiologischer Kochsalzlösung wurde in die Kulturmedien inokuliert. Es sollte geprüft werden, ob Haemophilus influenzae auch ohne Blutzusatz in den einzelnen Blutkultursystemen wachsen kann.

Eine sichtbare Trübung als Ausdruck starken Wachstums trat in keinem Kulturmedium auf.
Die Subkulturen der Ansätze in Levinthal-Bouillon und in zwei von sechs Anaer Hemocult Pasteur^{R}-Flaschen zeigten eine Vermehrung von Haemophilus influenzae während der 8-tägigen

Beobachtungszeit an (Tab. 1).
In der Mehrzahl der Vacutainer^{R}, in den Aer Hemocult Pasteur^{R}- und den Mikrognost^{R}-Flaschen vermehrten sich die Keime nicht. Die abnehmende Anzahl von Haemophilus influenzae-Kolonien in den Subkulturen zeigte ein allmähliches Absterben der inokulierten Keime an.

3.3.2 Hauptversuche mit Haemophilus influenzae - Suspensionen in Blut und sofortigem Kulturansatz

Nach Beimpfung der Blutkultursysteme mit Haemophilus influenzae-Suspensionen in Blutproben (Keimkonzentration: 10 K/ml Blut) wuchs Haemophilus influenzae in der Mehrzahl der zwölffach wiederholten Ansätze gut an (s. Tab. 2).
Die unregelmäßig auftretenden negativen Ergebnisse können durch zufällige Schwankungen des extrem niedrig eingestellten Inokulums bedingt sein. Es mußte aber ein so niedriges Inokulum gewählt werden, damit Unterschiede in der Leistungsfähigkeit der Kultursysteme sichtbar wurden. Die Bedeutung der Unterschiede in der Rate positiver Kulturergebnisse wurde anhand des χ^2-Tests nach Brand Snedecor (12) geprüft.
Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den aerob und den anaerob bebrüteten Kulturflaschen bzw. zwischen den aerob und unter erhöhter CO_2-Spannung bebrüteten Röhrchen mit Levinthal-Bouillon.

TABELLE 1: ERGEBNISSE DER VORVERSUCHE (6 ANSÄTZE MIT JEDEM VERFAHREN

Beimpfung mit Haemophilus influenzae-Suspensionen in Kochsalzlösung

Blutkulturverfahren		Anzahl der Kulturen	
		mit Wachstum	ohne Wachstum
Verfahren unter Verwendung von Liquoid^{R}-Venülen	Levinthal-Bouillon, aerob bebrütet	3	3
	Levinthal-Bouillon, unter 10 % CO_2 bebrütet	5	1
Mikrognost^{R}-Kulturflaschen	belüftete Kulturflaschen	0	6
	unbelüftete Kulturflaschen	0	6
Hemocult^{R}	Aer Hemocult^{R}	0	6
	Anaer Hemocult^{R}	2	4
Vacutainer^{R}	belüftete Kulturflaschen	0	6
	unbelüftete Kulturflaschen	0	6

TABELLE 2: HAUPTVERSUCHE OHNE WARTEZEITEN (12 ANSÄTZE MIT JEDEM VERFAHREN)

Beimpfung mit Haemophilus influenzae-Suspensionen in Blut

Blutkulturverfahren		Anzahl der Kulturen	
		mit Wachstum	ohne Wachstum
Verfahren unter Verwendung von Liquoid^{R}-Venülen	Levinthal-Bouillon, aerob bebrütet	9	3
	Levinthal-Bouillon, unter 10 % CO_2 bebrütet	11	1
Mikrognost^{R}-Kulturflaschen	belüftete Kulturflaschen	12	0
	unbelüftete Kulturflaschen	12	0
Hemocult^{R}	Aer-Hemocult^{R}	8	4
	Anaer-Hemocult^{R}	10	2
Vacutainer^{R}	belüftete Kulturflasche	11	1
	unbelüftete Kulturflasche	11	1

3.3.3 Hauptversuche und "Transport"-Zeiten

Aufgrund der Resultate dieser ersten Versuchsserie sowie der übereinstimmenden Angaben von SCHELL (13) und WASHINGTON (18) wurde die zweite Versuchsserie nur mit unbelüfteten Flaschen durchgeführt. Nur die Ansätze in Levinthal-Bouillon wurden weiterhin parallel aerob und unter 10 % CO_2 bebrütet. Die unter diesen Bedingungen erzielten Kulturergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.
Eine signifikante (χ^2 - Test nach Brand-Snedecor (12, S. 357 ff.)) Abnahme der Rate positiver Ergebnisse mit zunehmender "Transport"-Zeit war bei 11-facher Wiederholung aller Kulturansätze nicht feststellbar.
Zur Absicherung der Ergebnisse wurden weitere 7 Versuchsreihen durchgeführt, bei denen nur die kürzeste (30 min) und die längste (48 Std.) "Transport"-Zeit gewählt wurden. Somit lagen zu den "Transport"-Zeiten 30 min und 48 Stunden für jedes Kulturverfahren die Ergebnisse von 18 Versuchsansätzen vor (Tab. 4). Es bestätigt sich, daß auch bei 48-stündiger "Transport"-Zeit keine Verschiebung in der Rate positiver bzw. negativer Kulturergebnisse eintritt.

Unabhängig von den "Transport"-Zeiten war der Nachweis von Haemophilus influenzae mit allen hier geprüften Blutkulturverfahren möglich. Es fällt an den Daten der Tabelle 4 auf, daß Haemophilus influenzae in den Ansätzen mit Mikrognost^R-Flaschen am häufigsten angezüchtet werden konnte, während mit Hemocult^R-Flaschen die wenigsten Nachweise gelangen.

3.3.4 Visuelle Beurteilung - Subkultur

Bei allen Kulturen wurde täglich geprüft, ob als Zeichen bakteriellen Wachstums eine Trübung des Kulturmediums sichtbar wurde. Die visuelle Beurteilung nach dem ersten Bebrütungstag der Blutkultur stimmte in der Regel nicht mit dem durch Subkulturen gesicherten Kulturergebnis überein.

TABELLE 3: HAUPTVERSUCHE MIT 4 WARTEZEITEN

(11 KULTURANSÄTZE MIT JEDEM VERFAHREN ZU JEDER DER GEWÄHLTEN "TRANSPORT"-ZEITEN)

Blutkulturverfahren		"Transport"-Zeit							
		30 min		6 Std.		24 Std.		48 Std.	
		W	KW	W	KW	W	KW	W	KW
Verfahren unter Verwendung von Liquoid^{R}-Venülen	Levinthal-Bouillon, aerob bebrütet	7	4	9	2	11	0	11	0
	Levinthal-Bouillon, unter 10 % CO_2 bebrütet	7	4	10	1	11	0	11	0
Mikrognost^{R}-Kulturflasche (unbelüftet)		11	0	10	1	10	1	10	1
Anaer-Hemocult^{R}-Kulturflasche		5	6	7	4	5	6	4	7
Vacutainer^{R}-Kulturflasche (unbelüftet)		7	4	7	4	6	5	6	5

Spalte "W"(=Wachstum): Anzahl der Kulturen, in denen Haemophilus influenzae nachgewiesen wurde

Spalte "KW"(=kein Wachstum): Anzahl der Kulturen, in denen kein Wachstum von Haemophilus influenzae nachgewiesen wurde

TABELLE 4: ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE BEI KÜRZESTER UND LÄNGSTER "TRANSPORT-ZEIT"

(JEWEILS 18 ANSÄTZE BEI DEN BEIDEN "TRANSPORT"-ZEITEN)

Blutkulturverfahren		"Transport"-Zeit 30 min W	30 min KW	48 Std. W	48 Std. KW
Verfahren unter Verwendung von Liquoid^{R}-Venülen	Levinthal-Bouillon, aerob bebrütet	9	9	11	7
	Levinthal-Bouillon, anaerob bebrütet	7	11	11	7
Mikrognost^{R}-Kulturflasche unbelüftet		17	1	14	4
Anaer-Hemocult^{R}-Kulturflasche		6	12	5	13
Vacutainer^{R}-Kulturflasche, unbelüftet		11	7	7	11

Spalte "W" (= Wachstum): Anzahl der Kulturen, in denen Haemophilus influenzae nachgewiesen wurde

Spalte "KW" (= kein Wachstum): Anzahl der Kulturen, in denen Haemophilus influenzae nicht nachgewiesen wurde

Bei den Röhrchen mit Levinthal-Bouillon zeigten 92 % (bei aerober Bebrütung) bzw. 74 % (bei Bebrütung unter erhöhter CO_2-Spannung) der Kulturen mit positivem Ergebnis am ersten Tag keine Trübung des Kulturmediums (s. Tabelle 5).
Die Blutkulturflaschen wiesen nach eintägiger Bebrütung in der Regel eine Trübung des Kulturmediums auf. Diese Trübung trat jedoch auch bei 83 - 100 % (s. Tab. 5) der Kulturen mit negativem Ergebnis auf, so daß auch für die Blutkulturflaschen die visuelle Beurteilung kein Kriterium des Kulturergebnisses sein konnte.
Auf eine Trübung des Kulturmediums konnte deshalb nicht gewartet werden. Vielmehr war es notwendig, "blinde" Subkulturen anzulegen, die am 1., 2., 4., 6. und 8. Tag beimpft und bis zu 48 Stunden lang bebrütet wurden.

Bei 91 % der Blutkulturen mit Wachstum von Haemophilus influenzae wurde das Kulturergebnis bereits durch die erste Subkultur nach 24-stündiger Bebrütung der Platten gesichert.

Bei Fehlen von Kolonien wurden die Subkulturplatten erneut für 24 Stunden inokuliert. Durch diese Verlängerung der Inkubationszeit auf 48 Stunden wurden weitere 7 % der positiven Blutkulturen erkannt.
Die restlichen 2 % der positiven Blutkulturen wurden erst nach 2 - 4-tägiger Inkubation mit der Subkultur nachgewiesen.

TABELLE 5: KORRELATION VON KULTURERGEBNIS UND TRÜBUNG DES KULTURMEDIUMS

Blutkulturverfahren		Kulturen		
		Gesamtzahl (= 100 %)	mit Trüb.d.Kuturm.	ohne Trüb.d.Kulturm.
Venülenverfahren mit aerober Bebrütung der Levinthal-Bouillon	Kulturen mit Wachstum	49	4 (8 %)	45 (92 %)
	Kulturen ohne Wachstum	21	3 (14 %)	18 (86 %)
Venülenverfahren mit anaerober Bebrütung der Levinthal-Bouillon	Kulturen mit Wachstum	50	13 (26 %)	37 (74 %)
	Kulturen ohne Wachstum	20	10 (50 %)	10 (50 %)
Mikrognost^{R}-Kulturflasche unbelüftet	Kulturen mit Wachstum	63	62 (98 %)	1 (2 %)
	Kulturen ohne Wachstum	7	7 (100 %)	0 (0 %)
Anaer-Hemocult^{R}-Kulturflasche	Kulturen mit Wachstum	30	19 (63 %)	11 (37 %)
	Kulturen ohne Wachstum	40	33 (83 %)	7 (17 %)
Vacutainer^{R}-Kulturflasche unbelüftet	Kulturen mit Wachstum	40	39 (97 %)	1 (3 %)
	Kulturen ohne Wachstum	30	28 (93 %)	2 (7 %)

Die dunklen Felder zeigen die Anzahl (bzw. den prozentualen Anteil) der Kulturen, bei denen Trübung des Kulturmediums und Kulturergebnis nicht korrelierten.

4. Diskussion

4.1 Bedeutung des Patientenblutes als Wuchsstoffquelle

Für eine Bewertung der untersuchten Nährmedien ist die Frage bedeutsam, ob das jeweilige Medium selbst schon alle Wuchsstoffe enthält, die Haemophilus influenzae benötigt. Diese Anforderung erfüllt nur die Levinthal-Bouillon.
In den übrigen Blutkulturmedien wurde ohne Blutzusatz nur vereinzelt Wachstum von Haemophilus influenzae beobachtet (Tab. 1). SCHELL (13) kam zu einem ähnlichen Ergebnis: Bei Untersuchungen an 23 verschiedenen Blutkulturverfahren stellte sie fest, daß die Zugabe einer Erythrozyten-Serum-Mischung einen fördernden Einfluß auf die Kulturergebnisse von Haemophilus influenzae hatte.

In den eigenen Untersuchungen wurde Haemophilus influenzae nach Zugabe der präparierten Blutproben in Abhängigkeit vom jeweiligen System in mindestens 66 % der Kulturansätze nachweisbar. Schon TURK (17) brachte zum Ausdruck, daß praktisch jedes übliche Blutkulturmedium zur Anzüchtung von Haemophilus influenzae geeignet ist, da diesem Bakterium die speziellen Wuchsstoffe mit dem Patientenblut zugeführt werden.

4.2 Eignung der Kulturmedien

In den eigenen Versuchsreihen wurde Haemophilus influenzae am häufigsten mit den Mikrognost^{R}-Kulturflaschen nachgewiesen. Die Kulturergebnisse mit Levinthal-Bouillon, in der Haemophilus influenzae schon ohne Blutzusatz gut wächst, und auch mit Vacutainer^{R} unterscheiden sich nicht deutlich von den Ergebnissen mit Mikrognost^{R}-Flaschen.
Das konventionelle Blutkulturverfahren erweist sich im Vergleich zur Verwendung dieser Blutkulturflaschen als gleichwertig.

Lediglich bei dem Hemocult^{R}-System von Pasteur war auch nach Blutzusatz die Nachweisrate von Haemophilus influenzae nicht so hoch wie bei den übrigen Systemen. Ein Grund dafür könnte sein, daß in diesem System die Patientenblutprobe am stärksten verdünnt wird. 8 ml Blut wurden hier zu 100 ml Nährlösung hinzugegeben.

4.3 Einfluß der Belüftung von Kulturmedien

Ein Vergleich der Ergebnisse von belüfteten und unbelüfteten Blutkulturflaschen bzw. zwischen "Aer"- und "Anaer"-Hemocult^{R}-Pasteur-Flaschen sowie zwischen aerob und unter 10 % CO_2 bebrüteter Levinthal-Bouillon (Tab. 2) läßt keinen Einfluß der Bebrütungsatmosphäre erkennen.

Diese Beobachtung steht in Übereinstimmung mit der Feststellung von WASHINGTON (18), daß sich bei allen bisherigen Versuchsreihen unbelüftete Blutkulturflaschen den belüfteten Flaschen gleichen Typs als überlegen oder zumindest gleichwertig erwiesen haben.

Auch SCHELL (13) scheint von der Richtigkeit dieser Auffassung ausgegangen zu sein, als sie bei einer vergleichenden Untersuchung zur Anzüchtbarkeit von Haemophilus influenzae mit 23 verschiednen Blutkultursystemen nur unbelüftete Flaschen verwandte.

SZYMCZAK (15) wies bei 116 Blutkulturen von Haemophilus influenzae den Erreger in 8 % der Fälle nur mittels einer belüfteten Flasche mit Brucella-Broth, nicht aber aus einer parallel beimpften unbelüfteten Flasche mit Columbia-Broth nach.

Eine Beschränkung auf unbelüftete Flaschen hätte den Vorteil - speziell bei Kindern - daß dem Patienten weniger Blut entnommen werden muß.

Die hier ermittelten Ergebnisse unterstützen die alleinige Verwendung unbelüfteter Blutkulturflaschen, falls nicht die Liquoid^{R}-Venüle verwendet wird.

4.4 Vorteile "blinder" Subkulturen

Auch bei niedrigen Keimzahlen konnte Haemophilus influenzae in der Regel bereits in der ersten Subkultur nach 24-stündiger Bebrütung des Blutkulturansatzes nachgewiesen werden. Diese Beobachtung machte auch SZYMCZAK (15) beim Vergleich von Blutkultursystemen anhand von Patienten mit Haemophilus influenzae-Sepsis.

Zum sicheren und schnellen Nachweis einer Haemophilus influenzae-Sepsis ist es daher erforderlich, mehrere sogenannte "blinde" Subkulturen anzulegen, ohne daß eine eventuelle Trübung des Blutkulturmediums abgewartet wird.

4.5 Wartezeiten - "Transport"-Zeiten

Eine der Bebrütung vorangegangene 48-stündige Lagerung bei Zimmertemperatur (ca. 20°C) verminderte bei keinem der von uns untersuchten Blutkultursysteme die Häufigkeit, mit der Haemophilus influenzae in den artefiziellen "septischen" Blutproben nachgewiesen werden konnte (Tab. 4).
MUSCAN (8) vermutete einen Nachteil aller Blutkultursysteme, die Transportbehälter - wie z. B. die Liquoid^{R}-Venülen - verwenden, darin, daß es infolge einer Abkühlung des Blutes zu falsch negativen Kulturergebnissen komme.

Aus den Untersuchungen dieser Studie ergibt sich kein Hinweis für eine Schädigung der Haemophilus influenzae-Bakterien durch einen bis zu 48-stündigen Aufenthalt in Liquoid^{R}-Venülen. Auch die natürliche Blutbakterizidie scheint bei Anwesenheit von Liquoid^{R} innerhalb von zwei Tagen keine nachteilige Wirkung auf Haemophilus influenzae auszuüben.

Bei anbehandelten Patienten könnten Transportzeiten größere Bedeutung gewinnen. Hier könnte die Verwendung von Blutkul-

turflaschen von Vorteil sein, da in ihnen das Blut und damit die antibakterielle Konzentration im Blut sofort verdünnt wird. Diese Frage wurde aber in dieser Arbeit nicht untersucht, zumal Blutkulturen grundsätzlich im antibiotikafreien Intervall angelegt werden sollten.

4.6 Beurteilung des konventionellen Blutkulturverfahrens (Liquoid^{R}-Venüle) im Vergleich zu Blutkulturflaschen

In den 70 Versuchsserien dieser Studie hat sich erwiesen, daß das konventionelle Blutkulturverfahren nach Blutentnahme mit der Liquoid^{R}-Venüle zur Diagnose einer Haemophilus influenzae-Sepsis zumindest ebenso geeignet ist, wie die neuerdings vom Handel angebotenen Blutkulturflaschen mit Fertignährmedien. Wenn zur Blutkultur u. a. Levinthal-Bouillon eingesetzt wird, lassen die erzielten Kulturergebnisse und einige diskutierte theoretische Aspekte das konventionelle Verfahren günstiger erscheinen als bestimmte Blutkulturflaschen.

Die Vorteile der Blutkulturflaschen liegen in der technisch einfacheren Durchführbarkeit des Blutkulturverfahrens. Die Blutkultur kann auch außerhalb eines Laboratoriums zur Bebrütung angesetzt werden. Bei Blutproben von antibiotisch anbehandelten Patienten wird die Antibiotikakonzentration durch die Nährlösung der Blutkulturflasche verdünnt. Das kann sich eventuell im Einzelfall günstig auf das Ergebnis der Blutkultur auswirken.
Die Bebrütung von Blutkulturflaschen allein reicht zur Erkennung einer Bakteriämie nicht aus.
Eine fehlende Trübung der Nährlösung in einer bebrüteten Blutkulturflasche schließt Erregerwachstum nicht aus, umgekehrt können unspezifische Trübungen durch den Blutzusatz allein entstehen. Daher muß auch die Sepsisdiagnostik mit Blutkulturflaschen um weitergehende Untersuchungen in einem mikrobiologischen Laboratorium ergänzt werden.
Die Blutkultur aus Liquoid^{R}-Venülen erfordert von vornherein eine bakteriologische Ansatztechnik und den Einsatz verschie-

dener Nährmedien, wie es nur in einem Fachlaboratorium möglich ist. Jedoch läßt die Aufteilung der Blutprobe auf mehrere verschiedene Nährmedien positive Blutkulturbefunde von falsch positiven, d. h. Sepsiserreger von bloßen Kontaminationen der Blutprobe besser unterscheiden.
Dieser Vorteil des konventionellen Verfahrens bei der Interpretation der Blutkulturergebnisse hat in der täglichen Diagnostik einen großen Wert.

5. Schlussfolgerungen

1. Eine "Transport"-Zeit bis zu 48 Std. erwies sich in keinem der untersuchten Blutkultur-Systeme als nachteilig, insbesondere auch nicht bei der Liquoid^{R}-Venüle.

2. Ohne Blutzusatz vermehrte sich Haemophilus influenzae nur in der Levinthal-Bouillon, die nur nach Blutentnahme mit der Liquoid^{R}-Venüle eingesetzt wird.

3. Durch Zugabe von Patientenblut wurden etwaige Unterschiede in der Eignung der einzelnen Kulturmedien verwischt, da den Medien mit dem Patientenblut die Wuchsstoffe zugeführt werden, die Haemophilus influenzae benötigt.

4. Haemophilus influenzae war in der Blutkultur nur durch Subkulturen auf Kochblutagar nachweisbar.

5. Auch bei niedriger Keimzahl von Haemophilus influenzae in der Blutprobe wird in der Regel die erste - nach 24-stündiger Bebrütung der Blutkultur angelegte - Subkultur positiv.

6. Das konventionelle Blutkulturverfahren nach Blutentnahme mit der Liquoid^{R}-Venüle ist bei Einsatz von Levinthal-Bouillon zum Nachweis von Haemophilus influenzae gleich gut geeignet wie die modernen Blutkulturverfahren mit Blutkulturflaschen.

7. Die gute Leistungsfähigkeit des konventionellen Blutkulturverfahrens beim Nachweis des empfindlichen Bakteriums Haemophilus influenzae und die Vorteile bei der Interpretation der Blutkulturergebnisse, die dieses Verfahren bietet, berechtigten zum weiteren Gebrauch der Liquoid^{R}-Venülen und der traditionellen Blutkulturtechnik in der Sepsisdiagnostik.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BABU, J. P., R. F. SCHELL, and J. L. LE FROCK:
Evaluation of twenty-three blood culture media
J. Clin. Microbiol. 8: 288 - 292 (1978)

2. BLASEVIC, D. J., J. E. STEMPER, J. M. MATZEN:
Comparison of macroscopic examination, routine gram stains, and routine subcultures in the initial detection of positive blood cultures
Appl. Microbiol. 27: 537 - 539 (1974)

3. EYKIN, S. J., R. D. THOMAS, J. PHILLIPS:
Haemophilus meningitis in adults
Brit. Med. J. 2: 463 - 465 (1974)

4. HALL, M., E. WARREN, J. A. WASHINGTON II:
Detection of bacteremia with liquid medium containing sodium polyanetholsulfonate
Appl. Microbiol. 27: 187 - 191 (1974)

5. HALLMANN, L., F. Burkhardt:
Klinische Mikrobiologie, 4. Auflage (1974)
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

6. HIRSCHMANN, J. V., E. D. EVERETT:
Haemophilus influenzae infections in adults: Report of nine cases and review of the literature
Medicine (Baltimore) 58 (1): 80 - 94 (1979)

7. MC. GOWEN JR., J. E., J. O. KLEIN, L. BRATTON, M. W. BARNES, M. FINLAND:
Meningitis and bacteremia due to Haemophilus influenzae: Occurence and mortality at Boston City Hospital in 12 selected years, 1935 - 72
J. Inf. Dis. 130 (2): 119 - 124 (1974)

8. MUSCAN, S.:
Die Blutkultur zur erfolgreichen Therapie
Biotest Information, Frankfurt

9. NORDEN, C. W.:
Haemophilus influenzae infections in adults
Med. Clin. North. America 62 (5): 1037 - 46 (1978)

10. OTTO, H. J., H. BRANDIS:
Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie, 4. Auflage
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1978)

11. ROSNER, R.:
Evaluation of four blood culture systems using parallel culture methods
Appl. Microbiol. 28: 245 - 47 (1974)

12. SACHS, L.:
Angewandte Statistik
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1974)

13. SCHELL, R. F., J. L. LE FROCK, J. P. BABU and D. B. ROBINSON:
Recovery of Haemophilus influenzae from twenty-three blood culture media
J. Clin. Microbiol. 9: 84 - 87 (1979)

14. SELL, S. H. W.:
The clinical importance of Haemophilus infections in children
Pediatr. Clin. North. Am. 17: 415 - 426 (1970)

15. SZYMCZAK, E. G., J. T. BARR, W. A. DURBIN, D. A. GOLDMANN:
Evaluation of blood culture procedures in a pediatric hospital
J. Clin. Microbiol. 9 (1): 88 - 92 (1979)

16. TODD, J. K., F. W. BRUHNS:
Severe Haemophilus influenzae infections
Am. J. Dis. Child. 129: 607 (1975)

17. TURK, D. C., J. R. MAY:
Haemophilus influenzae: Its clinical importance
The English Universities Press Ltd., London (1967)

18. WASHINGTON II, J. A.:
Subject Review: Blood cultures, principles and techniques
Mayo Clin. Proc. 50: 91 - 98 (1975)

19. WASHINGTON II, J. A.:
Evaluation of two commercially available media for detection of bacteremia
Appl. Microbiol. 23: 956 - 959 (1972)

20. WASHINGTON II, J. A.:
Evaluation of two commercially available media for detection of bacteremia
Appl. Microbiol. 22: 604 - 607 (1971)

Danksagung

Herrn Professor Dr. med. P. Naumann, Direktor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Universität Düsseldorf, danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die Unterstützung meiner Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. H. Rosin für die Überlassung des Themas und die umfassende Betreuung dieser Dissertation.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen Frau M. Köhler und Frau R. Löken danke ich für die Unterstützung beim Erlernen der erforderlichen Labortechniken.

Bedanken möchte ich mich bei den Blutspendern
Herrn Professor Dr. med. H. Rosin, Frau C. Bethscheider, Frau R. Löken, Herrn M. Beumer, Herrn K.-D. Neubauer und Herrn M. Leineweber †.

LEBENSLAUF

Am 16. Oktober 1953 wurde ich, Peter Herzig, in Burgsteinfurt in Westfalen als Sohn des Bankangestellten Gustav Herzig und dessen Frau Elisabeth geboren. Kurz nach meiner Geburt zogen meine Eltern nach Essen um. Nachdem ich vier Jahre die katholische St. Laurentius-Schule in Essen-Steele besucht hatte, wechselte ich 1964 auf das im gleichen Stadtteil gelegene Carl-Humann-Gymnasium. Dort legte ich im April 1972 die Reifeprüfung ab.

Zum Wintersemester 1972/73 nahm ich an der Universität Düsseldorf das Studium der Humanmedizin auf. Am 6. November 1979 bestand ich die ärztliche Prüfung.

Von April 1980 bis August 1981 war ich als Assistenzarzt in der chirurgischen Abteilung des St. Josef-Hospitals in Krefeld-Uerdingen tätig. Seit Oktober 1981 bin ich in der gynäkologischen Abteilung desselben Hauses beschäftigt.

M. u. O. Lewandowsky, Am Kleianskreuz 41, 4000 Düsseldorf 31, Telefon (0211) 40 70 11